назначены для проведения различных морфометрических измерений и исследований. Они применяются в основном в медицине и биологии и служат для изменения визуализации исходных изображений путем различного рода преобразований, проведения анализа и измерений на этих изображениях и архивирования (рис. 2,3).

Типичными примерами решаемых с помощью данного комплекса задач являются морфометрия гистологических срезов, анализ патологических изменений клеток крови, оценка ядерно-клеточного (цитоплазменного) отношения, построение и анализ эритроцитарной гистограммы (например, для уточнения диагностики природы анемии), подсчет и анализ тромбоцитов, цитофотометрия, анализ поведенческих особенностей животных (траектория движения, скорость, ускорение) и другие медицинские приложения. В области материаловедения такими примерами являются гранулометрический анализ, анализ трещиноватости, фазовый анализ и т.п.

Метод иммуногистохимического окрашивания (рис. 2) рецепторов прогестерона используется при диагностике рака молочной железы. Проводится подсчет клеток с различной интенсивностью окрашивания в ткани опухоли. Продукт реакции, указывающий на локализацию и количество рецепторов, имеет коричневую окраску.

С помощью программы ВидеоТесТ-Морфология 4.0 можно автоматизировать выполнение этой задачи.

Представленные данные имеют выраженное прикладное значение, подтверждают необходимость и эффективность использования диагностической системы «ВидеоТесТ» в ветеринарной практике.

А.А. Алиев, С.Н. Омарова, Н.В. Литвинов, М.Н. Зенина, Ю.В. Пашкина, А.С. Николаева, О.Н. Параева

(ГУ «Санкт-Петербургская городская станция по борьбе с болезнями животных»; ФГОУВПО НГСХА)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АППАРАТНО-ПРОГРАМНЫХ КОМПЛЕКСОВ ВИДЕОТЕСТ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ АНЕМИЙ В ВЕТЕРИНАРНОЙ ПРАКТИКЕ

Определение количественного и качественного состава крови проводится, как правило, по капиллярной крови. Из практического опыта в ветеринарии отбор проб крови для клинического исследования производится из вены в контейнеры MiniCollect, содержащий EDTA.

Количественное исследование стабилизированной крови проводится на гематологическом анализаторе ABX Micros 60. Одними из важных показателей при анемии животных получаемых анализатором считаются: 1) RBC - количество эритроцитов, 2) HGB - гемоглобин, 3) HCT - гематокрит, 4) MCV - средний объем эритроцитов, 5) MCH - среднее содержание гемоглобина в 1 эритроците, 6) MCHC - средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, 7) RDW - показатель анизо ,итоза эритро ,итов.

В диагностике гематологической патологии наиболее информативным является морфологический анализ крови с использованием микроскопического метода оценки. В настоящее время сочетание

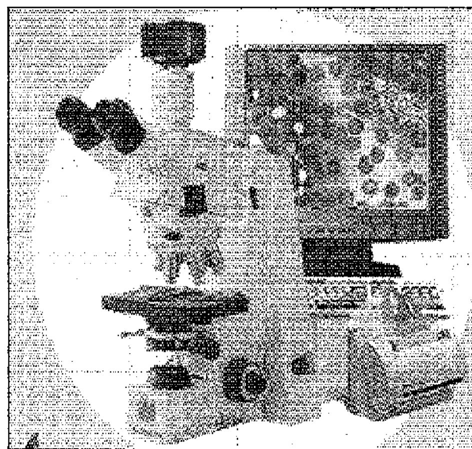


Рисунок 1. Аппаратно-программный комплекс «ВидеоТесТ»

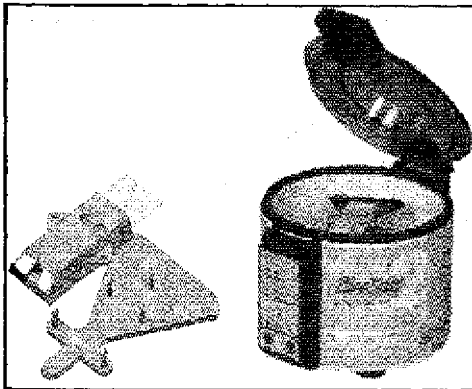


Рисунок 2. Центрифуга для приготовления мазков крови

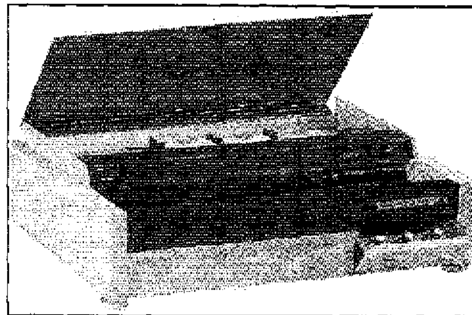


Рисунок 3. Прибор для окраски мазков

прогрессивных видеооптических технологий (Рис. 1) и классических методов анализа дают более объективные и производительные методики.

Использование практических сведений, накопленных в человеческой медицине, а также методик, разработанных компанией ВидеоТесТ, позволили внедрить компьютерный анализ в диагностику анемий животных.

Пробы крови (мазки) подготавливаются на микроцентрифуге Diff Spin2 (slide spinner) (Рис. 2), предназначенной для получения монослойных мазков. Далее препараты окрашиваются на автомате Hematek Stain Рак 2000 «Вауег» (окрашивающий пакет-продукт номер 4405) (Рис. 3).

Микроскопия проводится под иммерсией, объектив хЮО. Для уточнения характера анемии применяется методика оценки эритроцитов - эритроцитометрия. Используя соотношения содержания в крови эритроцитов разного диаметра, строится графическое изображение по принципу эритроцитометрической кривой Прайс-Джонса. По оси абсцисс откладывают величины диаметров эритроцитов, а по оси ординат - проценты эритроцитов соответствующей величины. Составление эритроцитометрических кривых в динамике наглядно демонстрирует сдвиги в величине эритроцитов в разные периоды болезни. В основе морфометрического метода лежит измерение диаметра эритроцитов в окрашенном мазке крови. Цифровое изображение исследуемого материала обрабатывается системной программой ВидеоТесТ с последующей дифференцировкой эритроцитов по размеру и распределением их по классам. Программа ВидеоТесТ-Морфология 4.0 позволяет автоматически проводить измерения эритроцитов в окрашенных мазках крови и пол. чать эритро итарн. ю гистограмм. (гистограмму распределения эритроцитов по размерам) (Рис. 4).

В методике «Эритроцитометрия» эритроциты выделяются автоматически. Производится измерение эритроцитов, их разделение на 4 класса по размерам (микроциты, нормоциты, макроциты и мегалоциты) (Таблица 1). Рассчитываются средний объем эритроцита, его толщина и сферичность.

При проведении исследования, измеряют диаметр 100-200 эритроцитов, распределяют по классам в зависимости от их величины, устанавливая в процентах относительную величину каждой группы. Для характеристики размера каждого эритроцита используется расчетный параметр СРЕДНИЙ ГАБАРИТ, вычисляемый как полусумма, длины и ширины. Для правильной оценки размеров, полученных на изображении, учитываются только одиночно лежащие эритроциты или незначительно контактирующие клетки, все прочие маркируются и не исследуются. Каждый класс исследуемых эритроцитов подвергается определению следующих параметров: 1) MAX размер; 2) MIN размер; 3) количество эритроцитов в каждом классе; 4) среднее значение размера; 5) ошибка среднего показателя; 6) % количества эритроцитов класса относительно всех проанализированных эритроцитов. Для верного расчета выше представленных параметров (среднего объема эритроцита - MCV, толщины и сферичности), задаются значения гематокрита НСТ и количества эритроцитов (RBC) в 1 мкл крови. Данные показатели предварительно определяются на гематологическом анализаторе ABX Micros 60. Практически средний объем эритроцита получают путем умножения гематокритного числа на 10 и деления полученного произведения на число эритроцитов в миллионах (первая циф-

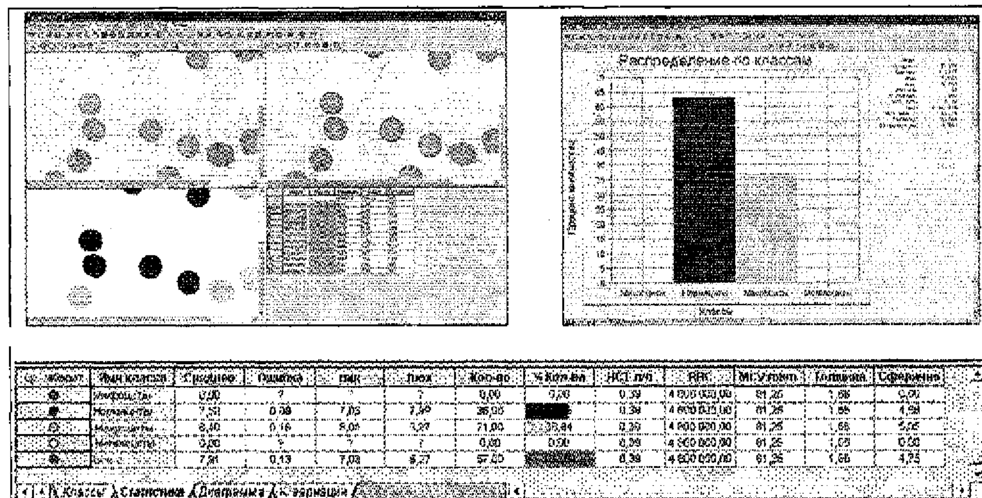


Рисунок 4. Методика эритропитометрии.

ра) в 1 мкл. Затем по данным всех измерений строится гистограмма распределения эритроцитов по классам. На гистограмме по оси X откладываются значения параметров Средний габарит, а по оси Y - % количества каждого класса. У здоровых животных в периферической крови находятся эритроциты разной величины (физиологический анизоцитоз).

Среди всех домашних животных собаки имеют наибольшие эритроциты (d=7,0 мкм), наименьшие у кошек (d=4,3 мкм) (Таблица 2).

Нами был проанализирован случай заболевания собаки (питбультерьер), с диагнозом: гепатит неясного генеза, цирроз печени, Животное болело 4 месяца, отказывалось от еды, периодически наблюдалась рвота. Лечение симптоматическое, проводилось на дому. При обследовании - собака сильно обезвожена, склеры и кожа желтушные. Ультразвуковое исследование выявило гепатоспленомегалию, цирроз печени.

Исследованиями крови установлено: RBC 0.7×10^6/мкл, RDW 18.5, MPV 8.4, PDW 6.2, HCT 7.2%; HGB 2.3 г/дл, MCH 30.3 pg; MCHC 32.4 г/дл, MCV 94 Мкм; WBC 26.4×10^3/мкл; Тромбоциты 77×10^3/мкл.

Морфологический анализ препаратов крови выявил: п/яд нейтрофилов 7, с/яд нейтрофилов 77, лимфоцитов 2, моноцитов 13 и эозинофилов 1%.

Таблица 1

Классификация анемий животных

Микроцитарные гинохромные		**Нормоцитарные нормохромные**		**Макроцитарные нормо- и гиперхромные**	
	собЛкош.		собЛкош.		собЛкош.
MCV (МкмЗ)	<60 \ <40	MCV (МкмЗ)	60,0-77,0\41,0-56,2	MCV (МкмЗ)	> 77,0 fl \56,0 £l
MCH(pg)	<24 пг \ также	MCH (pg)	24-34\24-34	MCH(pg)	> 34 пг \ также
MCHC (г\л)	<320 г\л \ также	MCHC (г\л)	330\330	MCHC (г\л)	около нормы
RDW (%)	> или =	RDW (%)	около нормы	RDW (%)	увеличен.
HGB(rVm)	<12,0 \ <9,0	HCB(г\дл)	12,0-18,0 \ 9,0-16,7	HOB(г1дл)	>18,0\>16,7

Таблица 2

Физиологические характеристики эритроцитов у разных видов животных

Вид животных	**Диаметр эритроцита (мкм)**	**Продолжительность жизни эритроцита (сутки)**
Кошки	4,9	66-79
Собаки	5-9 (среднее 7)	110-120
Лошади	4-7,5	140-150

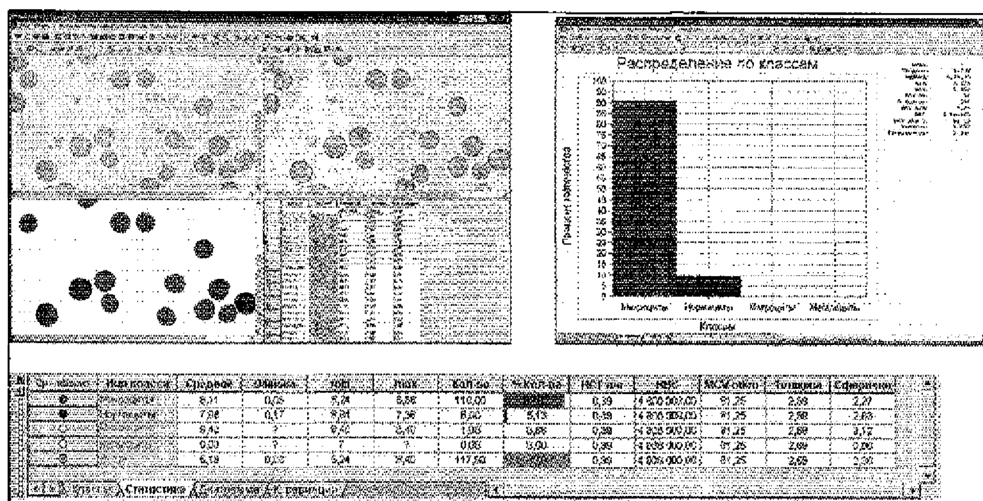


Рисунок 5. Эритроцитометрия.

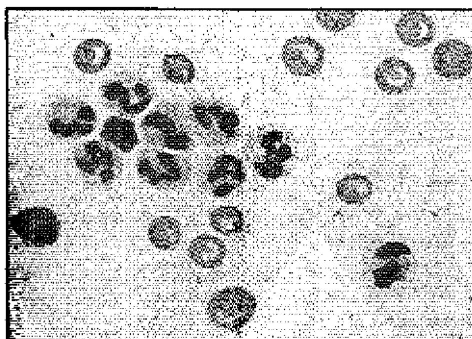


Рисунок 6. Периферическая кровь. Окр. Романовский-Гимза.

При оценке красной крови выявлен выраженный анизоцитоз, макроцитоз полихроматофилия, оксифильные и полихроматофильные нормобласты. Обращает внимание расположение гранулоцитов вокруг нормобластов (Рис. 6). При компьютерной эритроцитометрии выявлен сдвиг вправо, макроцитоз (Рис. 5. см. выше).

Представленные данные имеют выраженное прикладное значения и доказывают, что комплексная оценка препаратов крови облегчает постановку диагноза, в том числе и ретроспективную.

А.А. Алиев, С.Н. Омарова, Н.В. Литвинов,
Ю.В. Пашкина, Е.В. Медова, А.С. Николаева, О.Н. Параева
(«Санкт-Петербургская городская станция по борьбе с болезнями животных»; ФГОУ ВПО НГСХА)

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ОТОМИКОЗОВ У ДОМАШНИХ животных

Дрожжевые грибки рода Malassezia, вызывающие отомикозы у домашних жиятных, характеризуются толстой, многосяойной клеточной стенкой и размножаются посредством бластоконидий повторятощимся монополюсным почкованием. Основными представителями рода являютсЯ: M. furfur, M. sympodialis, M. globosa, **M.** obstisa, M. pachydermatis и др.). В основ**ном** они выделяются с кожи млекопитающихиптиц.

Наиболее распространен вид — M. pachydermatis, особенно среди плотоядных, при этом собаки являются постоянными его носителями. M. pachydermatis высевается из кожи наружного ушного канала, с нижней губы, с кожи межпальцевьтх зон, из ануса, из влагалища и прямой кишки. Данный вид локализуется в основном в поверхностном эпидермисе (в шиповатом слое), а заселение волосяных фолликул наблюдается относительно редко.